

PARP9促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭

郑 芬 周晓敏 吴家雪[△]

(复旦大学生命科学学院遗传学系 上海 200438)

【摘要】 目的 探究聚(ADP-核糖)聚合酶9[poly(ADP-ribose)polymerase 9, PARP9]在肺腺癌组织中的表达、预后及其对肺腺癌细胞迁移和侵袭能力的影响。**方法** 通过UALCAN数据库、GEO数据库和72例配对肺腺癌组织样本的免疫组化染色结果,分析PARP9在肺腺癌组织中的表达、预后以及与肺腺癌患者临床病理特征的相关性。利用CRISPR/Cas9在肺腺癌细胞H1299和A549中敲除PARP9基因,通过慢病毒感染在PARP9缺陷的A549细胞中恢复表达PARP9,使用Transwell小室检测细胞迁移和侵袭能力的改变。**结果** 数据库分析与免疫组化染色结果表明,与正常肺组织相比,PARP9在肺腺癌组织中的mRNA和蛋白质水平均显著提高($P<0.05$)。PARP9高表达的肺腺癌患者总体生存期更短,且PARP9表达与肺腺癌患者的临床分期与淋巴结转移相关($P<0.05$)。PARP9缺陷显著抑制H1299和A549细胞的迁移和侵袭能力,恢复表达PARP9可以逆转该表型($P<0.05$)。**结论** PARP9在肺腺癌中高表达,高表达PARP9的肺腺癌患者预后不良,PARP9可促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭,提示其可能是肺腺癌的一个重要原癌基因。

【关键词】 肺腺癌; PARP9; 细胞迁移; 细胞侵袭

【中图分类号】 R734.2 **【文献标志码】** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2022.06.001

PARP9 promotes the migration and invasion of lung adenocarcinoma cells

ZHENG Fen, ZHOU Xiao-min, WU Jia-xue[△]

(Department of Genetics, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China)

【Abstract】 Objective To investigate the expression and prognosis of poly (ADP-ribose)polymerase 9 (PARP9) in lung adenocarcinoma and its effect on the migration and invasion of lung adenocarcinoma cells. **Methods** The expression of PARP9 in lung adenocarcinoma, the prognosis and the correlation with the clinicopathological characteristics of lung adenocarcinoma patients were analyzed by UALCAN database, GEO database and immunohistochemical staining results of 72 paired lung adenocarcinoma tissue samples. PARP9 gene was knocked out in H1299 and A549 cells by CRISPR/Cas9, and it was reconstructed by lentiviral infection in PARP9-defective A549 cells, then the changes in cell migration and invasion ability were detected by Transwell chamber. **Results** Database analysis and immunohistochemical staining results showed that mRNA and protein levels of PARP9 were significantly increased in lung adenocarcinoma compared with normal lung tissues ($P<0.05$). The overall survival of lung adenocarcinoma patients with high expression of PARP9 was shorter, and the expression of PARP9 was correlated with the clinical stage and lymph node metastasis of the patients ($P<0.05$). PARP9 deficiency significantly inhibited the migratory and invasive abilities of H1299 and A549 cells, and the reconstruction of PARP9 reversed this phenotype ($P<0.05$). **Conclusion** PARP9 is highly expressed in lung adenocarcinoma, and high expression of PARP9 is associated with poor prognosis of the patients.

国家自然科学基金(81972712)

[△]Corresponding author E-mail: jiaxue@fudan.edu.cn

网络首发时间:2022-07-11 09:52:31 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20220708.1023.008.html

PARP9 promotes the migration and invasion of lung adenocarcinoma cells, suggesting that PARP9 may be an important proto-oncogene in lung adenocarcinoma.

【Key words】 lung adenocarcinoma; PARP9; cell migration; cell invasion

* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81972712).

肺癌的发生率和死亡率居高不下,全世界每年约有180万例肺癌病例。肺癌具有异质性,分为多种亚型,肺腺癌是最常见的亚型。由于肺癌被诊断时多已处于晚期且伴随转移,预后相对较差,探究肺癌发病与转移的分子机制意义重大^[1-2]。ADP-核糖基化是一种由细胞内聚(ADP-核糖)聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]催化的翻译后修饰反应,PARP家族中已鉴定出17个成员^[3]。PARP家族成员及其介导的ADP-核糖基化反应在细胞生命进程中发挥重要作用,包括DNA修复、细胞黏附、脂质代谢、细胞增殖或死亡等^[4-5]。

PARP家族成员9(PARP9),又被称为B侵袭性淋巴瘤蛋白(B-aggressive lymphoma-1 protein, BAL1),最初作为弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)的风险基因被报道,PARP9过表达会促进恶性B细胞迁移^[6]。PARP9的N末端为两个Macro结构域,C末端为PARP催化结构域,因缺乏对自身的催化活性,早期认为PARP9是无活性的单-ADP-核糖基转移酶^[7]。然而,Yang等^[8]指出PARP9/DTX3L异二聚体介导对泛素的单-ADP-核糖基化。研究表明,PARP9主要在DNA损伤修复和病毒感染过程中发挥作用^[9-10]。多项研究揭示PARP9在肿瘤中表达上调,如弥漫性大B淋巴瘤、前列腺癌和乳腺癌等,并在肿瘤发展中发挥重要作用^[6, 11-12],但其在肺腺癌中的作用尚未见报道。

本研究首先对PARP9在肺腺癌中的表达和预后意义进行分析,并通过实验探究其对肺腺癌细胞H1299与A549迁移和侵袭能力的影响,以增强对于PARP9在肺腺癌中的作用认识,同时为探寻肺腺癌的诊疗靶点提供新思路。

材料和方法

数据集和数据库 采用常见肿瘤数据库进行基因表达分析。癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)计划收录了多种癌症的临床

信息和基因组数据,临床蛋白质组学肿瘤分析联盟(clinical proteomic tumor analysis consortium, CPTAC)整合了肿瘤基因组和蛋白质组的数据。通过UALCAN^[13](<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)对TCGA和CPTAC数据进行挖掘和分析,在UALCAN中进行基因表达分析和生存分析。基因表达数据库(Gene Express Omnibus, GEO)由美国国立生物技术信息中心创建,储存高通量测序数据。我们使用GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)的肺腺癌数据集GSE31210进行基因表达分析。

免疫组化分析 75例肺腺癌组织及配对正常组织样本由上海芯超生物科技有限公司提供(编号:HLugA150CS03),3例因脱片无法统计,且存在少量临床数据缺失。使用PARP9抗体(17535-1-AP,美国Proteintech公司)进行免疫组化染色(1:1 000),根据免疫染色强度分级(0:无染色;1:弱染色;2:中等染色;3:强染色),同时按照免疫染色百分比分级(0级:0;0<1级≤25%;25%<2级≤50%;51%<3级≤75%;75%<4级≤100%)。免疫染色强度评分与免疫染色百分比评分的乘积为PARP9染色总分,然后将样本分为PARP9表达阴性(总分≤3)和PARP9表达阳性(总分>3)。

细胞系和细胞培养 人肺腺癌细胞A549和H1299来自中国科学院上海细胞库。细胞在含有10%胎牛血清(德国PAN公司)和1%青霉素和链霉素(上海翊圣生物科技有限公司)的RPMI 1640培养基(美国Gibco公司)中培养,培养条件为37℃、5%CO₂、潮湿培养。

PARP9缺陷和PARP9回补细胞系的构建 使用CRISPR/Cas9敲除PARP9,将靶向PARP9的两条sgRNA连接至质粒载体(sgRNA1:5'-GAGATA-GCTGTACACGGGAGCAGG-3'和sgRNA2:5'-TT-ATCCCATTCATCCACCGAGG-3'),然后转染A549和H1299细胞,梯度分盘后使用嘌呤霉素筛选3天,正常培养,直至长出肉眼可见的克隆。对单克隆基因组测序,并进行Western blot检测,筛选成功

敲除的细胞。使用慢病毒感染来恢复 PARP9 表达缺陷细胞中的 PARP9。将慢病毒包装系统的 3 个质粒 (PCDH、Pxpax2、PMD2g) 转染到 HEK293T 细胞中进行病毒包装,用含有病毒的上清液感染敲除细胞。流式分选后,通过 Western blot 鉴定阳性感染的细胞。

Western blot 检测 使用 SDS-PAGE 分离蛋白,用半干转膜仪将蛋白质转移到经甲醇激活的 PVDF 膜上,将 PVDF 膜与 5% 的脱脂牛奶一起孵育,封闭 30 min 后洗膜,然后与含 Flag(M20008)、 β -actin(P30002)和 PARP9(17535-AP)的一抗,在 4 °C 下孵育过夜,洗膜后将 PVDF 膜与偶联辣根过氧化物酶的二抗在室温下孵育 30 min。使用 ECL 系统记录结果。

细胞迁移和侵袭检测 使用无血清培养基重悬细胞,计数后加入 Transwell 小室的内室,将小室置于 24 孔板中,外室加入完全培养基,培养 36 h。室温下用 4% 多聚甲醛固定细胞,并用 0.2% 结晶紫染色,用棉签轻轻擦去内室的细胞,对外室迁移的细胞进行拍照计数。进行侵袭实验时,提前在 Transwell 小室的内室加入用无血清培养基稀释的 Matrigel,后续操作同迁移实验。

统计学分析 使用 GraphPad Prism 5.0 对实验结果进行绘图和统计分析;使用 Image J 对细胞进行计数;使用独立样本 t 检验比较两组数据,以 $\bar{x} \pm s$ 显示结果;使用 Log-rank 检验进行 PARP9 高表达和低表达患者的生存差异分析;使用 χ^2 检验进行 PARP9 表达与患者临床病理信息的相关性分析。实验重复 3 次, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

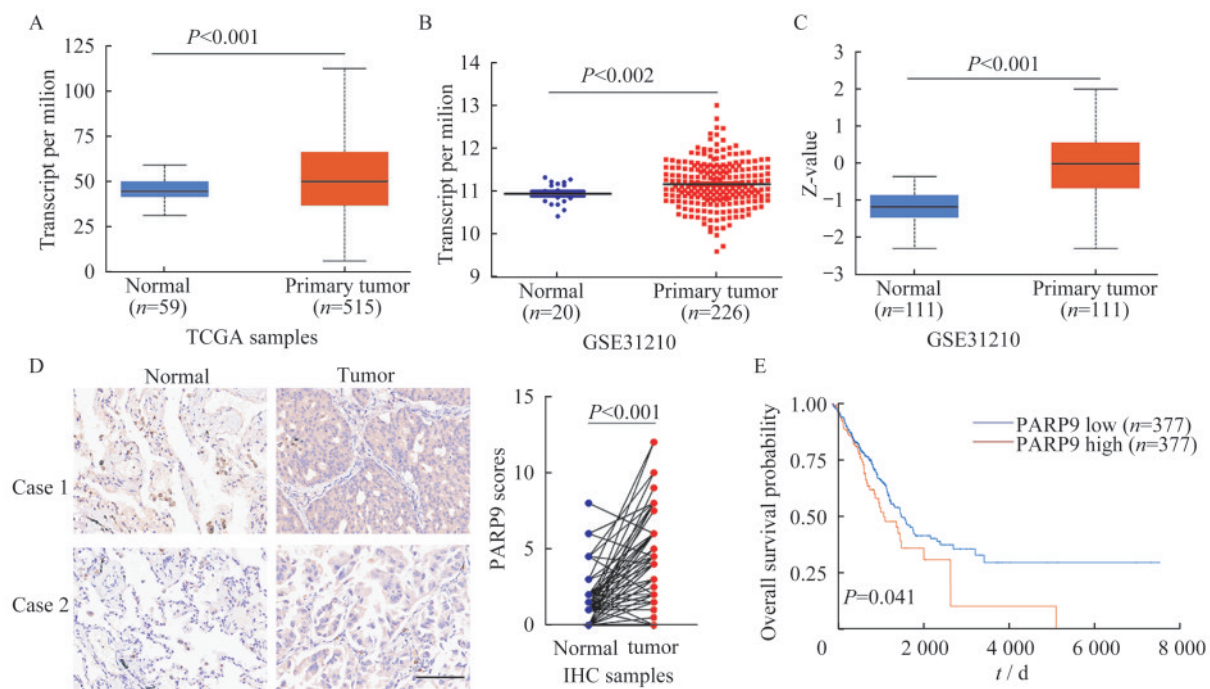
PARP9 在肺腺癌患者中高表达且预后不良

我们首先通过分析 TCGA 数据库中的 mRNA 数据来评估 PARP9 在肺腺癌中的表达水平。结果显示,PARP9 在肺腺癌组织中的表达水平显著高于邻近正常组织 ($P < 0.001$,图 1A)。同时,来自 GEO 数据库的数据进一步证实了这一结果 ($P = 0.002$,图 1B)。接下来,我们分析了 CPTAC 数据库中 PARP9 的蛋白水平。与 mRNA 结果一致,肺腺癌组织中 PARP9 的蛋白水平也显著高于正常组织 ($P < 0.001$,图 1C)。使用 PARP9 的抗体对 72 例肺

腺癌样本及其配对正常组织进行免疫组化染色,进一步评估了 PARP9 的表达,结果同样显示,与正常组织相比,PARP9 在肺腺癌中显著高表达 ($t = 8.909$, $P < 0.001$,图 1D)。结合免疫组化染色结果,我们对 PARP9 的表达与肺腺癌患者临床病理信息之间的相关性进行了分析,结果表明 PARP9 的表达水平与肺腺癌患者的临床分期 ($\chi^2 = 4.309$, $P = 0.038$) 和淋巴结转移 ($\chi^2 = 3.916$, $P = 0.048$) 具有相关性,而与性别、年龄、肿瘤大小无相关性(表 1)。此外,TCGA 数据库的 Kaplan-Meier 生存分析表明,PARP9 高表达的肺腺癌患者总生存期显著短于 PARP9 低表达的患者 ($P = 0.041$,图 1E),提示 PARP9 的表达与肺腺癌患者的不良预后正相关。

PARP9 缺陷显著抑制肺腺癌细胞的迁移与侵袭 我们设计了两条靶向 PARP9 第 3 号外显子的向导 RNA,在 H1299 与 A549 细胞中敲除 PARP9,对获得的细胞单克隆提取基因组在敲除位点进行 DNA 扩增与 Sanger 测序,选择基因组含有非 3 整数倍碱基缺失的单克隆,使用 PARP9 抗体进行 Western blot 验证,结果显示敲除组内 PARP9 蛋白的表达丢失(图 2A、2B),表明 PARP9 缺陷细胞株构建成功。由于 PARP9 的表达水平与肺腺癌患者淋巴结转移显著相关(表 1),使用 Transwell 小室对 PARP9 在肺腺癌细胞迁移中的功能进行测定。与野生型细胞相比,PARP9 缺陷型 H1299 细胞与 A549 细胞的迁移能力均显著降低(H1299 组: KO1, $t = 4.206$, $P = 0.003$; KO2, $t = 15.81$, $P < 0.001$; A549 组: KO1, $t = 9.310$, $P < 0.001$; KO2, $t = 7.795$, $P < 0.001$)(图 2C),提示 PARP9 缺陷抑制肺腺癌细胞的迁移。肿瘤细胞侵袭能力同样是影响肿瘤转移的重要因素,在 Transwell 小室的内室添加基质胶预处理,进行侵袭实验。与野生型细胞相比,PARP9 缺陷的 H1299 细胞和 A549 细胞的侵袭能力显著降低(H1299 组: KO1, $t = 18.460$, $P < 0.001$; KO2, $t = 12.730$, $P < 0.001$; A549 组: KO1, $t = 3.754$, $P = 0.006$; KO2, $t = 4.573$, $P = 0.002$)(图 2D),表明 PARP9 缺陷抑制肺腺癌细胞的侵袭。

PARP9 恢复表达恢复细胞的迁移和侵袭 为了排除 CRISPR-Cas9 技术可能存在的脱靶效应,进一步证实 PARP9 在肺腺癌细胞迁移和侵袭中的作用,通过慢病毒感染在 PARP9 缺陷的 A549 细胞中恢复表达 PARP9。以空病毒感染作为对照,使用



A-C: PARP9 mRNA in lung adenocarcinoma and normal tissues in TCGA database, GSE31210 (GEO database) and CPTAC database; D: Immunohistochemical staining and scoring statistics of PARP9 in lung adenocarcinoma tissue chips (bar=100 μ m); E: Overall survival of lung adenocarcinoma patients with high or low PARP9 expression in the TCGA database.

图1 PARP9在肺腺癌及正常组织中的表达与预后

Fig 1 Expression and prognosis of PARP9 in lung adenocarcinoma and normal tissues

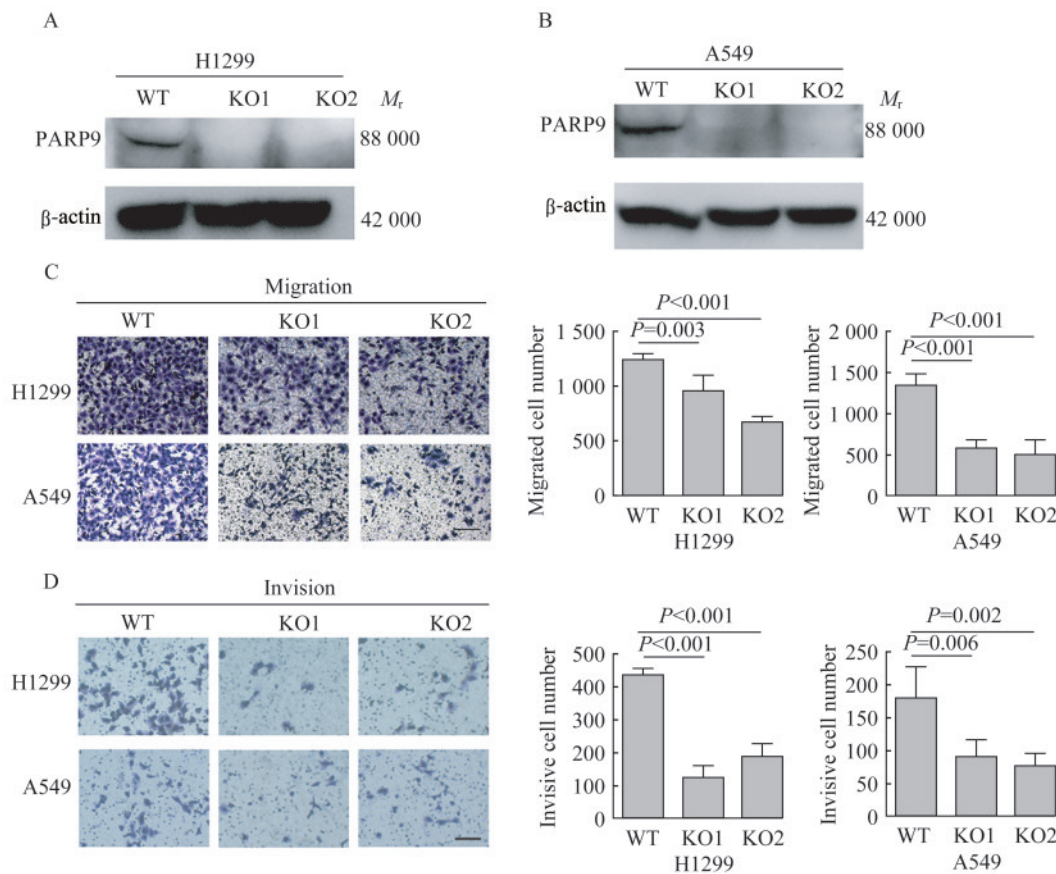
表1 肺腺癌组织中 PARP9 表达与患者临床资料的相关性分析

Tab 1 Correlation analysis between PARP9 expression in lung adenocarcinoma tissues and clinical data of the patients

Clinical information	Case (n)	PARP9 expression in lung adenocarcinoma		χ^2	P
		Negative	Positive		
Sex				0.210	0.647
Female	40	15	25		
Male	31	10	21		
Age (y)				0.098	0.754
≤ 50	13	5	8		
> 50	59	20	39		
Tumor size (cm)				0.006	0.941
≤ 5	6	2	4		
> 5	66	23	43		
Clinical stage				4.309	0.038
I - II	46	20	26		
III - IV	26	5	21		
Lymph node metastasis				3.916	0.048
No	41	17	24		
Yes	27	5	22		

Transwell 小室检测 A549 细胞的迁移和侵袭能力。Western blot 结果表明 (图 3A), 慢病毒感染后, PARP9 缺陷型 A549 细胞中 PARP9 表达恢复至与野生型细胞相当的水平。Transwell 迁移和侵袭实验结果表明 (图 3B、3C), PARP9 缺陷显著减弱

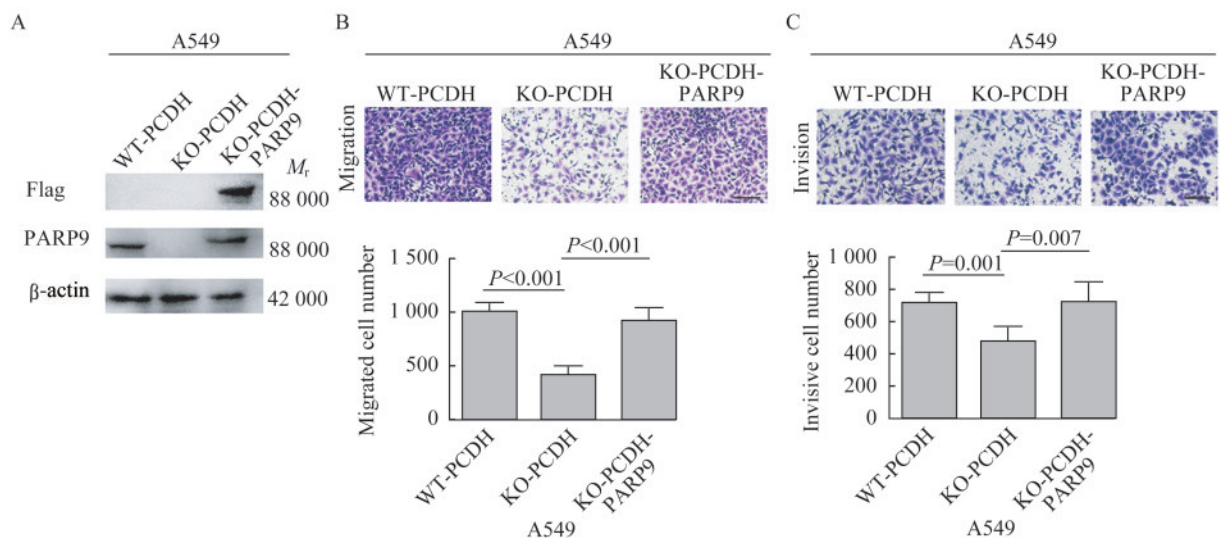
A549 细胞的迁移和侵袭能力 (迁移: $t=11.250$, $P<0.001$; 侵袭: $t=4.916$; $P=0.001$), 恢复表达 PARP9 后, 迁移和侵袭的减弱得以恢复 (迁移: $t=7.576$, $P<0.001$; 侵袭: $t=3.632$; $P=0.007$), 由此证实 PARP9 在调节肺腺癌细胞迁移和侵袭中的作用。



Validation of PARP9 knockout in H1299 cells (A) and A549 cells (B) assessed by Western blot. Migration assay (C) and Invasion assay (D) of H1299 cells and A549 cells after PARP9 knockout (bar=100 μ m).

图2 PARP9缺陷对肺腺癌细胞的迁移和侵袭能力的影响

Fig 2 Effects of PARP9 deficiency on the migration and invasion of lung adenocarcinoma cells



A: Reconstitution of PARP9 in PARP9-deficient A549 cells was confirmed by Western blot; B: Migration assay of A549 cells after reconstitution of PARP9; C: Invasion assays of A549 cells after reconstitution of PARP9 (bar=100 μ m).

图3 PARP9回复表达对肺腺癌细胞的迁移和侵袭能力的影响

Fig 3 Effects of PARP9 reconstitution on the migration and invasion of lung adenocarcinoma cells

讨 论

肺癌中非小细胞肺癌占比85%,肺腺癌和肺鳞癌是最常见的非小细胞肺癌亚型,肺腺癌占肺癌总数的40%,不同肺癌亚型具有不同的遗传驱动因素和预后特征^[14]。基因组学研究揭示了肺腺癌的驱动基因,如 *TP53*、*KRAS* 和 *EGFR* 等的突变,对肺腺癌诊疗具有重要的指导意义,推动了靶向治疗进展^[15]。本研究中,我们发现 PARP9 在肺腺癌组织表达上调且预后不良,使用同样的数据库分析时,肺鳞癌中 PARP9 的转录与预后相关性不显著,提示 PARP9 可能与肺腺癌进展相关,该结果是否由不同肺癌亚型表达模式的差异导致,需通过规模化分析去验证。

既往研究揭示了 PARP9 在一些实体瘤中的表达与作用: Bachmann 等^[11] 发现在前列腺癌中 PARP9 参与调节细胞增殖与存活, Yang 等^[12] 发现 PARP9 在乳腺癌中高表达并促进细胞迁移,也有研究通过数据挖掘发现 PARP9 表达与低级别胶质瘤的肿瘤微环境显著相关,可能通过调控肿瘤微环境参与胶质瘤进展^[16]。基于此,本研究首次探究了 PARP9 在肺腺癌中的表达与作用。通过数据库与组织芯片样本分析,我们发现 PARP9 在肺腺癌中上调表达,临床病理特征相关性分析结果提示 PARP9 高表达预示更高的淋巴转移风险。为了探究 PARP9 在肺腺癌中的生物学作用,我们构建了 PARP9 敲除与恢复表达的肺腺癌细胞株,通过 Transwell 实验证明 PARP9 可以促进肺腺癌细胞的迁移与侵袭,该结果与组织样本中 PARP9 高表达预示肺腺癌转移高风险结果一致。

目前对于 PARP9 作用的分子机制的研究多与免疫相关, PARP9 参与 IFN- γ 信号传导,调控机体免疫应答,控制病毒感染^[10, 17]。免疫细胞中 IFN- γ 诱导 PARP9 的表达, PARP9 通过刺激信号转导与转录激活因子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1) 磷酸化影响下游信号^[18-19]。STAT1 在肿瘤中异常激活,参与肿瘤侵袭转移、化疗耐药等过程,其表达在多种实体瘤中具有预后价值^[20-21]。有研究表明 PARP9 通过调控下游 STAT1 参与前列腺癌与 DLB-CL 的进展^[11, 19], 此外, Xu 等^[22] 对胶质瘤的研究中发现 PARP9 高表达患者体

内存在多条免疫相关信号通路的富集,如 JAK-STAT 信号通路、Toll 样受体信号通路等。另有两项报道指出 PARP9 在食管癌与宫颈癌中的表达受上游非编码 RNA 的调控,进而影响细胞的致癌性^[23-24]。我们的研究表明 PARP9 在调控肺腺癌细胞迁移中发挥重要作用,可能与肺腺癌转移相关,但具体的机制仍有待探究。TCGA 数据库的肺腺癌样本中,与 PARP9 表达存在高度相关性的基因也主要与免疫相关,越来越多的研究揭示了免疫信号通路在肺腺癌转移和预后中的重要作用^[25-26], PARP9 是否会通过免疫相关信号参与对肺腺癌细胞迁移侵袭的调控仍有待探究。

本研究存在一些不足:首先是 PARP9 对肺腺癌细胞迁移侵袭能力影响的探究局限于细胞层面,我们曾尝试进行裸鼠尾静脉注射实验进行体内迁移验证,但注射后野生组与敲除组均未见转移瘤,考虑细胞体内转移能力较弱或未达到合适的实验条件,仍需进一步摸索,我们采用两个肺腺癌细胞株并进行恢复表达以验证结果的可靠性;其次是对 PARP9 调控肺腺癌细胞迁移和侵袭中的分子机制尚未明确,我们目前考虑通过生物信息学分析结合互作蛋白筛选进一步展开对 PARP9 在肺腺癌中作用的分子机制探索。

综上所述,本项研究发现 PARP9 在肺腺癌组织中高表达,高表达 PARP9 的肺腺癌患者具有更短的总体生存期、更高的临床分期且更易出现淋巴转移,在肺腺癌细胞中敲除 PARP9 后细胞的迁移和侵袭能力被显著抑制,而恢复表达 PARP9 则恢复了肺腺癌细胞的迁移和侵袭能力。本研究指出 PARP9 与肺腺癌的进展相关, PARP9 可能参与肺腺癌转移,提示 PARP9 具有成为肺腺癌预测性生物标记物的可能,为进一步明确 PARP9 在肿瘤中的作用提供了新的理论依据。我们将继续开展对 PARP9 作用的分子机制探索,以进一步明确 PARP9 在肺腺癌中的作用。

作者贡献声明 郑芬 实验设计和执行,数据整理和分析,论文撰写和修订。周晓敏 实验执行,论文撰写和修订。吴家雪 实验设计和指导,论文审阅和修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] WADOWSKA K, BIL-LULA I, TREMBECKI Ł, *et al.* Genetic markers in lung cancer diagnosis: a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(13):4569.
- [2] DE SOUSA VML, CARVALHO L. Heterogeneity in lung cancer[J]. *Pathobiology*, 2018, 85(1-2):96-107.
- [3] GRIMALDI G, CORDA D. ADP-ribosylation and intracellular traffic: an emerging role for PARP enzymes[J]. *Biochem Soc Trans*, 2019, 47(1):357-370.
- [4] GIBSON BA, KRAUS WL. New insights into the molecular and cellular functions of poly (ADP-ribose) and PARPs[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(7):411-424.
- [5] HOPP AK, HOTTIGER MO. Uncovering the invisible: mono-ADP-ribosylation moved into the spotlight[J]. *Cells*, 2021, 10(3):680.
- [6] AGUIAR RC, YAKUSHIJIN Y, KHARBANDA S, *et al.* BAL is a novel risk-related gene in diffuse large B-cell lymphomas that enhances cellular migration[J]. *Blood*, 2000, 96(13):4328-4334.
- [7] AGUIAR RC, TAKEYAMA K, HE C, *et al.* B-aggressive lymphoma family proteins have unique domains that modulate transcription and exhibit poly (ADP-ribose) polymerase activity[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(40):33756-33765.
- [8] YANG CS, JIVIDEN K, SPENCER A, *et al.* Ubiquitin modification by the E3 ligase/ADP-ribosyltransferase Dtx3L/Parp9[J]. *Mol Cell*, 2017, 66(4):503-516.
- [9] YAN Q, XU R, ZHU L, *et al.* BAL1 and its partner E3 ligase, BBAP, link Poly (ADP-ribose) activation, ubiquitylation, and double-strand DNA repair independent of ATM, MDC1, and RNF8[J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(4):845-857.
- [10] XING J, ZHANG A, DU Y, *et al.* Identification of poly (ADP-ribose) polymerase 9 (PARP9) as a noncanonical sensor for RNA virus in dendritic cells[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):2681.
- [11] BACHMANN SB, FROMMEL C, CAMICIA R, *et al.* DTX3L and ARTD9 inhibit IRF1 expression and mediate in cooperation with ARTD8 survival and proliferation of metastatic prostate cancer cells[J]. *Mol Cancer*, 2014, 13(1):125.
- [12] TANG X, ZHANG H, LONG Y, *et al.* PARP9 is overexpressed in human breast cancer and promotes cancer cell migration[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3):4073-4077.
- [13] CHANDRASHEKAR DS, BASHEL B, BALASUBRAMANYA SAH, *et al.* UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses[J]. *Neoplasia*, 2017, 19(8):649-658.
- [14] RELI V, TREROTOLA M, GUERRA E, *et al.* Abandoning the notion of non-small cell lung cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2019, 25(7):585-594.
- [15] XU JY, ZHANG C, WANG X, *et al.* Integrative proteomic characterization of human lung adenocarcinoma[J]. *Cell*, 2020, 182(1):245-261.
- [16] LIANG H, HUANG C. Identification of tumor microenvironment-related genes in lower-grade gliomas by mining TCGA database[J]. *Transl Cancer Res*, 2020, 9(8):4583-4595.
- [17] RUSSO LC, TOMASIN R, MATOS IA, *et al.* The SARS-CoV-2 Nsp3 macrodomain reverses PARP9/DTX3L-dependent ADP-ribosylation induced by interferon signaling[J]. *J Biol Chem*, 2021, 297(3):101041.
- [18] IWATA H, GOETTSCHE C, SHARMA A, *et al.* PARP9 and PARP14 cross-regulate macrophage activation via STAT1 ADP-ribosylation[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:12849.
- [19] CAMICIA R, BACHMANN SB, WINKLER HC, *et al.* BAL1/ARTD9 represses the anti-proliferative and pro-apoptotic IFN γ -STAT1-IRF1-p53 axis in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(9):1969-1980.
- [20] VERHOEVEN Y, TILBORGHES S, JACOBS J, *et al.* The potential and controversy of targeting STAT family members in cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 60:41-56.
- [21] ZHANG J, WANG F, LIU F, *et al.* Predicting STAT1 as a prognostic marker in patients with solid cancer[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2020, 12:1-16.
- [22] XU H, CHAI S, WANG Y, *et al.* Molecular and clinical characterization of PARP9 in gliomas: a potential immunotherapeutic target[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26(8):804-814.
- [23] MA Y, ZHANG D, WU H, *et al.* Circular RNA PRKCI silencing represses esophageal cancer progression and elevates cell radiosensitivity through regulating the miR-186-5p/PARP9 axis[J]. *Life Sci*, 2020, 259:118168.
- [24] TAO L, WANG X, ZHOU Q. Long noncoding RNA SNHG16 promotes the tumorigenicity of cervical cancer cells by recruiting transcriptional factor SPI1 to upregulate PARP9[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(3):773-784.
- [25] LIN W, CHEN Y, WU B, *et al.* Identification of the pyroptosis-related prognostic gene signature and the associated regulation axis in lung adenocarcinoma[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1):161.
- [26] XING Y, LIN Y, ZHANG Y, *et al.* Novel cytoplasmic lncRNA IKBKAS promotes lung adenocarcinoma metastasis by upregulating IKK β and consequential activation of NF- κ B signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(11):1004.

(收稿日期:2021-10-15; 编辑:段佳)